

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:  
M. Yokoyama, et al.

Serial No.: Corresponding to PCT/JP00/05614  
filed August 22, 2000

Filed: Concurrently herewith

For: Plant Activator

CLAIM FOR PRIORITY

Honorable Commissioner of  
Patents and Trademarks  
Washington, D.C. 20231

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application filed in Japan is hereby requested for the above identified application and the priority provided in 35 U.S.C. 365 is hereby claimed:

Japanese patent application No. 11-236210 filed August 23, 1999

In support of this claim, a certified copy of said original foreign application was filed with the International Bureau on October 5, 2000, as evidenced by form PCT/IB/304, which is attached.

It is requested that the file of this application be marked to indicate that the requirements of 35 U.S.C. 365 have been fulfilled



DOCKET NO. SHI-018-USA-PCT

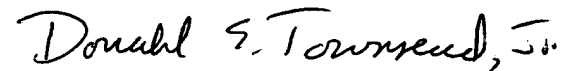
and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt  
of these documents.

Respectfully submitted,

TOWNSEND &amp; BANTA



Donald E. Townsend  
Reg. No. 22,069



Donald E. Townsend, Jr.  
Reg. No. 43,198

TOWNSEND & BANTA  
1225 Eye Street, N.W.  
Suite 500, #50028  
Washington, D.C. 20005  
(202) 682-4727

Date: February 22, 2002

8-11-80 101

2

PGT/JP00/05614

日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

22.08.00

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

REC'D 05 OCT 2000	
WIPO	PCT

出願年月日  
Date of Application:

1999年 8月23日

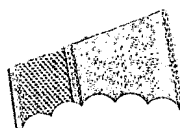
出願番号  
Application Number:

平成11年特許願第236210号

EKU

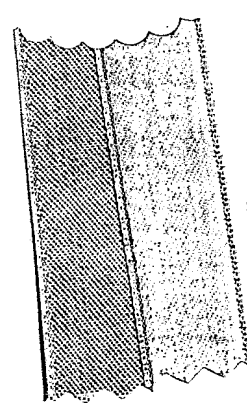
出願人  
Applicant(s):

株式会社資生堂



PRIORITY  
DOCUMENT

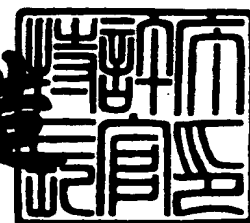
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



2000年 9月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3075986

【書類名】 特許願  
 【整理番号】 PSHI319  
 【提出日】 平成11年 8月23日  
 【あて先】 特許庁長官殿  
 【国際特許分類】 A01N 27/00  
 【発明の名称】 植物の成長促進剤  
 【請求項の数】 6

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 株式会社資生堂  
 第一リサーチセンター内

【氏名】 横山 峰幸

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 株式会社資生堂  
 第一リサーチセンター内

【氏名】 山口 祥子

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 株式会社資生堂  
 第一リサーチセンター内

【氏名】 飯田 年以

【発明者】

【住所又は居所】 東京都中央区銀座 7 丁目 5 番 5 号 株式会社資生堂内

【氏名】 小島 清隆

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 株式会社資生堂  
 第一リサーチセンター内

【氏名】 小林 孝次

【特許出願人】

【識別番号】 000001959

【氏名又は名称】 株式会社資生堂

【代理人】

【識別番号】 100103160

【弁理士】

【氏名又は名称】 志村 光春

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 061920

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9708840

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 植物の成長促進剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 2 位ないし  $n$  位のいずれかに位置する炭素原子から選ばれる異なる 2 つの炭素原子の一方がカルボニル基を構成する炭素原子であり、他方がヒドロキシル基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が 4 ～ 24 のケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【請求項 2】 請求項 1 記載の植物の成長促進剤の有効成分であるケトール脂肪酸の、その 2 位ないし  $n$  位のいずれかに位置する炭素原子その炭素鎖におけるカルボニル基を構成する炭素原子及びヒドロキシル基が結合した炭素原子以外のいずれか 1 つの炭素原子がヒドロペルオキシ基が結合した炭素原子であるケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 記載の植物の成長促進剤の有効成分であるケトール脂肪酸の一方のカルボニル基を構成する炭素原子と、他方のヒドロキシル基が結合した炭素原子が  $\alpha$  位又は  $\gamma$  位の位置にあるケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【請求項 4】 その炭素原子同士の結合形式に関し、2 重結合が 1 か所以上、6 か所以下存在する、請求項 1 ないし 3 のいずれかの請求項記載の植物の成長促進剤の有効成分であるケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【請求項 5】 その炭素原子数が 18 であり、かつその炭素原子同士の結合形式に関し、2 重結合が 2 か所存在する、請求項 1 ないし 4 のいずれかの請求項記載の植物の成長促進剤の有効成分であるケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【請求項 6】 2 位ないし  $n$  位のいずれかに位置する炭素原子がヒドロペルオキシ基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が 4 ～ 24 のヒドロペルオキシ脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】



本発明は、植物の成長促進剤に関する技術分野の発明である。

【0002】

【従来の技術】

植物の成長の促進技術を開発することは、穀物植物や園芸植物の供給効率を向上させる上で、非常に重要な事項である。

植物の成長の速度を決める因子としては、温度、光、栄養分等が考えられる。植物の成長を促進させるために、目的とする植物の性質に応じた温度条件や日照条件を選択する試みは、古来から行われている。これらの温度や光以外の成長促進技術としては、施肥が代表的な技術として挙げられ、一定の効果を上げている。

【0003】

しかしながら、施肥の効果については、自ずと限界があり、用いる肥料の量を多くしても、一定以上の植物の成長の促進効果は期待できないばかりか、肥料を多く与えすぎると、かえって植物の成長に障害となり、ひいては土壌を汚染してしまうことにもなりかねない。

【0004】

特に、植物の成長初期においては、施肥による栄養障害が起こりやすく、通常は、この時期は施肥を控えるのが普通である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明が解決すべき課題は、従来行われている植物の成長促進手段とは異なる植物の成長促進手段、特に、植物の成長初期においても、施肥のように植物の成長を阻害しない成長促進手段を見出して、肥料の使用量を抑え、土壌環境を悪化させることなく、植物の成長を促進させることにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、この課題の解決に向けて鋭意検討を行った。その結果、特定の構造を有するケトール脂肪酸が、所望する植物の成長促進活性を有すること等を見出し、本発明を完成した。

【0007】

すなわち、本発明者は、本願において、2位ないしn位のいずれかに位置する炭素原子から選ばれる異なる2つの炭素原子の一方がカルボニル基を構成する炭素原子であり、他方がヒドロキシル基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が4～24のケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤（以下、本発明成長促進剤ともいう）。

【0008】

なお、本発明における「成長促進」とは、茎葉の拡大、塊茎塊根の成長促進、着果促進、果実の成長促進等を包含する概念である。

【0009】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態について説明する。

本発明成長促進剤は、特定のケトール脂肪酸を有効成分とする剤である。

【0010】

このケトール脂肪酸は、上記の通り、2位乃至n位のいずれかに位置する炭素原子から選ばれる異なる2つの炭素原子の一方がカルボニル基を構成する炭素原子であり、他方がヒドロキシル基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が4～24のケトール脂肪酸である（以下、このケトール脂肪酸を「本発明関連ケトール脂肪酸」ということもある）。

【0011】

すなわち、本発明関連ケトール脂肪酸の一つの特徴は、その炭素骨格にカルボニル基を構成する炭素原子及びヒドロキシル基が結合した炭素原子が存在するケトール構造をとることである。

【0012】

このケトール構造に関わるカルボニル基を構成する炭素原子及びヒドロキシル基が結合した炭素原子は、上記ケトール脂肪酸の炭素骨格における位置関係は、 $\alpha$ 位又は $\gamma$ 位であることが、所望する植物の成長促進活性を発揮するうえで好ましく、特に $\alpha$ 位であることがこの観点から好ましい。

【0013】

また本発明関連ケトール脂肪酸は、その炭素原子同士の結合形式に関し、2重結合が1～6か所存在する不飽和ケトール脂肪酸であることが、所望する植物の成長促進活性を発揮するうえで好ましい。

## 【0014】

また本発明関連ケトール脂肪酸の炭素数は18であることが好ましい。さらにこの場合には、本発明関連ケトール脂肪酸の炭素原子同士の結合形式に関し、2重結合が2か所存在することが好ましい。

## 【0015】

なお本発明関連ケトール脂肪酸は、そのカルボニル基を構成する炭素原子とヒドロキシル基が結合した炭素原子以外のいずれか1つの炭素原子にヒドロペルオキシ基が結合した炭素原子を有していてもよい。

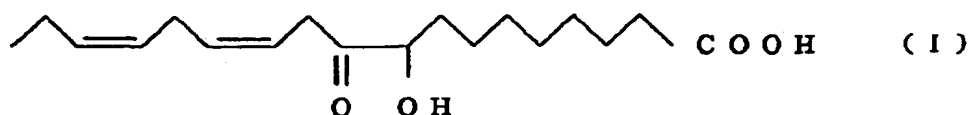
## 【0016】

上述の本発明関連ケトール脂肪酸の具体例としては、例えば9-ヒドロキシ-10-オキソ-12(Z), 15(Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸(I)ということもある〕、13-ヒドロキシ-12-オキソ-9(Z), 15(Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸(II)ということもある〕、13-ヒドロキシ-10-オキソ-11(E), 15(Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸(III)ということもある〕、9-ヒドロキシ-12-オキソ-10(E), 15(Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸(IV)ということもある〕等を挙げることができる。

## 【0017】

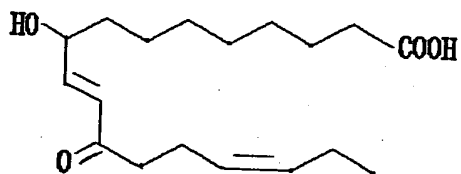
以下に、本発明関連ケトール脂肪酸(I)及び同(IV)の化学構造式を記載する。

## 【化1】



## 【0018】

【化 2】



(IV)

【0019】

なお、本発明関連ケトール脂肪酸 (II) 及び同 (III) の化学構造式は、後述するこれらの本発明関連ケトール脂肪酸の化学合成法についての記載の中で開示する。

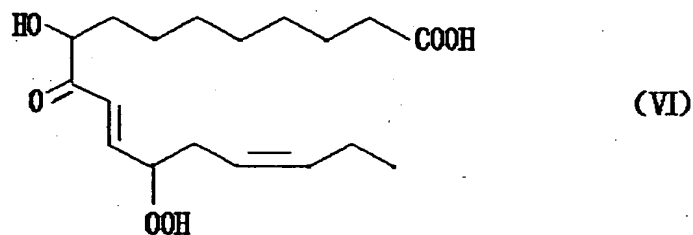
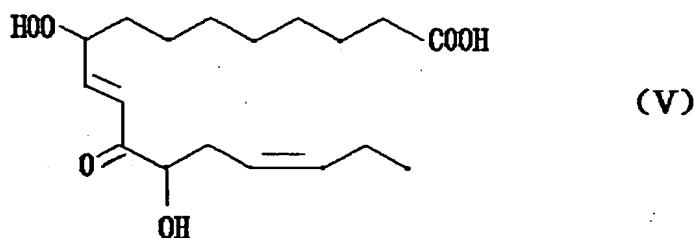
【0020】

また、そのカルボニル基を構成する炭素原子とヒドロキシル基が結合した炭素原子以外のいずれか 1 つの炭素原子にヒドロペルオキシ基が結合した炭素原子を有している本発明関連ケトール脂肪酸としては、例えば 13-ヒドロキシ-9-ヒドロペルオキシ-12-オキソ-10 (E), 15 (Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸 (V) ということもある〕、9-ヒドロキシ-13-ヒドロペルオキシ-10-オキソ-11 (E), 15 (Z)-オクタデカジエン酸〔以下、本発明関連ケトール脂肪酸 (VI) ということもある〕等を挙げることができる。

【0021】

以下に、本発明関連ケトール脂肪酸 (V) 及び同 (VI) の化学構造式を記載する。

## 【化 3】



## 【0 0 2 2】

上述の本発明関連ケトール脂肪酸のうち、少なくとも一部は動植物における脂肪酸代謝物質の中間体として知られているが、これらが直接植物において果たす役割については知られていない。

## 【0 0 2 3】

例えば、本発明関連ケトール脂肪酸（I）は、生体内に豊富に存在する $\alpha$ -リノレン酸を出発物質とする脂肪酸代謝経路の中間体として知られている。しかしながら、この本発明関連ケトール脂肪酸（I）が直接植物において果たす役割については知られていない。

## 【0 0 2 4】

本発明者はこれらの本発明関連ケトール不飽和脂肪酸が、広く植物における成長促進作用を有することを見出した。

## 【0 0 2 5】

A. 本発明関連ケトール脂肪酸の製造方法について

本発明関連ケトール脂肪酸は、所望するケトール脂肪酸の具体的構造に応じた方法で製造することができる。

## 【0 0 2 6】

すなわち、①天然物に含まれていることが明らかな態様の本発明関連ケトール

脂肪酸は、この天然物から抽出精製することで製造することができる（以下、抽出法という）。また、②不飽和脂肪酸にリポキシゲナーゼ等の酵素を、植物体内における脂肪酸代謝経路に準じて作用させることにより本発明関連ケトール脂肪酸を得ることができる（以下、酵素法という）。さらに、③所望する本発明関連ケトール脂肪酸の具体的構造に応じて、通常公知の化学合成法を駆使して本発明関連ケトール脂肪酸を得ることができる（以下、化学合成法という）。

## 【0027】

①抽出法について：

上記本発明関連ケトール脂肪酸（I）は、ウキクサ科植物の一種であるアオウキクサ（Lemna paucicostata）から抽出・精製して得ることができる。

## 【0028】

この抽出法における原材料となるアオウキクサ（Lemna paucicostata）は、池や水田の水面に浮遊する、水面に浮かぶ葉状体が各々1本の根を水中に下ろす小型の水草であり、比較的増殖速度が速いことで知られている。花は、葉状体の体側に形成され、1本の雄しべだけからなる雄花2個と1個の雌しべからなる雌花が、共通した小さな苞に包まれている。

## 【0029】

このアオウキクサの破碎物に、遠心分離（8000×g・10分間程度）を施し、得られた上清と沈澱物のうち、上清を除いたものを本発明関連ケトール脂肪酸（I）を含む画分として用いることができる。

## 【0030】

このように、本発明関連ケトール脂肪酸（I）は、上記破碎物を出発物として単離・精製することが可能である。

## 【0031】

そして、さらに調製効率の上で好ましい出発物として、アオウキクサを浮かべた又は浸漬した後の水溶液を挙げることができる。この水溶液は、アオウキクサが生育可能なものである限りにおいて特に限定されない。

## 【0032】

この水溶液の調製の具体例は、後述する実施例において記載する。

浸漬時間は、室温で2～3時間程度でも可能であるが、特に限定されるべきものではない。

【0033】

また、上記した方法で本発明関連ケトール脂肪酸（I）の出発物を調製する場合に、あらかじめアオウキクサに本発明関連ケトール脂肪酸（I）を誘導することができる特定のストレスを与えることが、本発明関連ケトール脂肪酸（I）の製造効率上好ましい。

【0034】

具体的には、乾燥ストレス、熱ストレス、浸透圧ストレス等を前記特定のストレスとして挙げることができる。

【0035】

乾燥ストレスは、例えば低湿度（好ましくは相対湿度で50%以下）で室温下、好ましくは24～25℃程度で、アオウキクサを乾燥したフィルター紙上に広げた状態で放置することによって与えることができる。この場合の乾燥時間は、概ね20秒以上、好ましくは5分以上、より好ましくは15分以上である。

【0036】

熱ストレスは、例えば温水中にアオウキクサを浸漬することによって与えることができる。この場合の温水の温度は、40℃～65℃で可能であり、好ましくは45℃～60℃、より好ましくは50℃～55℃である。また、温水に処理する時間は、概ね5分程度で足るが、比較的低温の場合、例えば40℃程度の温水中でアオウキクサを処理する場合は、2時間以上処理することが好ましい。また、上記熱ストレス処理後は、速やかにアオウキクサを冷水中に戻すことが好ましい。

【0037】

浸透圧ストレスは、例えば高濃度の糖溶液等の高浸透圧溶液にアオウキクサを接触させることにより与えることができる。この場合の糖濃度は、例えばマンニトール溶液であれば0.3M以上、好ましくは0.5M以上であることが好ましい。処理時間は、例えば0.5Mマンニトール溶液を用いる場合は1分以上、好ましくは3分以上である。

【0038】

このようにして、所望する本発明関連ケトール脂肪酸（I）を含む出発物を調製することができる。

なお、上記した種々の出発物の基となるアオウキクサの株は特に限定されない。

【0039】

次に、上記のように調製した出発物に以下のような分離・精製手段を施して、所望する本発明関連ケトール脂肪酸（I）を製造することができる。

なお、ここに示す分離手段は例示であり、これらの分離手段に上記出発物から本発明関連ケトール脂肪酸（I）を製造するための分離手段が限定されるものではない。

【0040】

まず、上記出発物に対して溶媒抽出を行い、本発明関連ケトール脂肪酸（I）を含有する成分を抽出することが好ましい。かかる溶媒抽出に用いる溶媒は特に限定されるものではなく、例えばクロロホルム、酢酸エチル、エーテル、ブタノール等を用いることができる。これらの溶媒の中でもクロロホルムは、比較的容易に不純物を除去することが可能であるという点において好ましい。

【0041】

この溶媒抽出で得られた油層画分を、通常公知の方法を用いて洗浄・濃縮し、ODS（オクタデシルシラン）カラム等の逆相分配カラムクロマトグラフィー用カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にかけて、花芽誘導活性画分を同定・単離することにより本発明関連ケトール脂肪酸（I）を単離することができる〔本発明関連ケトール脂肪酸に花芽誘導活性が認められることは、すでに公知である（特開平10-324602号公報等を参照のこと）〕。

【0042】

なお、出発物の性質等に応じて通常公知の他の分離手段、例えば限外濾過、ゲル濾過クロマトグラフィー等を組み合わせて用いることも勿論可能である。

【0043】

以上、本発明関連ケトール脂肪酸（I）を抽出法で製造する工程について説明



したが、所望する態様の本発明関連ケトール脂肪酸が生体中に存在する場合には、上記に準じた方法や、上記の方法の変法を駆使することにより、その本発明関連ケトール脂肪酸を製造することが可能である。

#### 【0044】

##### ②酵素法について：

酵素法の出発物質として典型的なものとしては、所望する本発明関連ケトール脂肪酸の構造に応じた位置に二重結合が存在する、その炭素数が4～24の不飽和脂肪酸を挙げることができる。

#### 【0045】

この不飽和脂肪酸としては、例えばオレイン酸、バクセン酸、リノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸、アラキドン酸、9,12-octadecadienoic acid、9,11 (10,12)-octadecadienoic acid、9,12,15-octadecatrienoic acid、6,9,12,15-octadecatetraenoic acid、11,14-eicosadienoic acid、5,8,11-eicosatrienoic acid、5,8,11-eicosatriynoic acid、11,14,17-eicosatrienoic acid、5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid、13,16-docosadienoic acid、13,16,19-docosatrienoic acid、7,10,13,16-docosatetraenoic acid、7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid、4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid等を挙げることができるが、これらの不飽和脂肪酸に限定されるものではない〔なお、これらの不飽和脂肪酸において、立体異性体はトランス体(trans-)であってもシス体(cis-)であってもよい〕。

#### 【0046】

これらの不飽和脂肪酸は、概ね動物・植物等に含まれている不飽和脂肪酸であり、これらの動物・植物等から通常公知の方法を通じて抽出・精製したものや、通常公知の方法により化学合成したものをを用いることも可能であり、市販品を用いることも勿論可能である。

#### 【0047】

この酵素法においては、上記の不飽和脂肪酸を基質として、リポキシゲナーゼ(LOX)を作用させて、これらの不飽和脂肪酸の炭素鎖にヒドロペルオキシ基(-OOH)を導入する。

【0048】

リポキシゲナーゼは、不飽和脂肪酸の炭素鎖に分子状酸素をヒドロペルオキシ基として導入する酸化還元酵素であり、動物・植物を問わず、またサッカロミセス属に属する酵母に代表される酵母においてもその存在が確認されている酵素である。

【0049】

例えば、植物であれば被子植物全般〔具体的には、後述する本発明成長促進剤を適用可能な双子葉植物及び単子葉植物全般〕において、その存在が確認されている酵素である。

【0050】

これらの植物の中でも特にダイズ、アマ、アルファルファ、大麦、ソラマメ、ハウチワマメ、ヒラマメ、エンドウマメ、ジャガイモ、小麦、リンゴ、パンイースト、綿、キュウリ、スグリ、ブドウ、西洋ナシ、インゲンマメ、コメ、イチゴ、ヒマワリ、茶等がリポキシゲナーゼの出所としては好ましい。また、クロロフィルがリポキシゲナーゼの上記活性を阻害する傾向が強いために、可能な限り植物におけるクロロフィルが存在しない種子、根、果実等をリポキシゲナーゼの原料として選択することが好ましい。

【0051】

本発明においてリポキシゲナーゼは、不飽和脂肪酸の炭素鎖の所望する位置にヒドロペルオキシ基を導入することができるものであれば、その由来は特に限定されないが、可能な限り選択的にリノール酸またはリノレン酸の9位の二重結合部分を酸化するリポキシゲナーゼを用いることが、所望する本発明関連ケトール脂肪酸の収率を向上させ得るという点において非常に好ましい。

【0052】

かかる選択的リポキシゲナーゼの代表的なりポキシゲナーゼとして、例えばコメ胚芽 (rice germ) に由来するリポキシゲナーゼを挙げることができる [Yamamoto, A., Fuji, Y., Yasumoto, K., Mitsuda, H., Agric. Biol. Chem., 44, 443 (1980) 等]。

【0053】

そして、この選択的リポキシゲナーゼに対する基質として選択する不飽和脂肪

酸としては、リノール酸又は $\alpha$ -リノレン酸を用いることが好ましい。

【0054】

なお、不飽和脂肪酸を基質としてリポキシゲナーゼ処理を行うに際しては、用いるリポキシゲナーゼの至適温度及び至適pHで酵素反応を進行させることが好ましいのは当然である。

【0055】

また、上記のリポキシゲナーゼ反応工程により生じた、製造を企図しない夾雑物は、通常公知の方法、例えば上記①の欄で述べたHPLC等を用いることにより、容易に分離することが可能である。

【0056】

ここで用いられるリポキシゲナーゼは、通常公知の方法により、上記植物等から抽出・精製したものをを用いることも、市販品を用いることも可能である。

【0057】

このようにして、上記不飽和脂肪酸からヒドロペルオキシ不飽和脂肪酸を製造することができる。

【0058】

このヒドロペルオキシ不飽和脂肪酸は、本発明関連ケトール脂肪酸の酵素法による製造工程の中間体として位置づけることが可能であり、しかもこのヒドロペルオキシ不飽和脂肪酸自体にも植物の成長促進作用が認められる。

【0059】

この意味で本発明は前記の通り、2位乃至n位のいずれかに位置する炭素原子がヒドロペルオキシ基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が4～24のヒドロペルオキシ脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤をも提供する発明である。

【0060】

このヒドロペルオキシ不飽和脂肪酸としては、例えば上記本発明関連ケトール脂肪酸(I)の中間体として、 $\alpha$ -リノレン酸にリポキシゲナーゼを作用させて得ることができる9-ヒドロペルオキシ-10(E)，12(Z)，15(Z)-オクタデカトリエン酸又は13-ヒドロペルオキシ-9(Z)，11(E)，

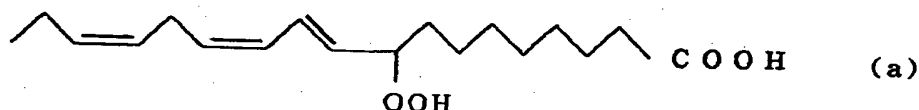
15 (Z)-オクタデカトリエン酸を挙げることができる。

【0061】

これらのヒドロペルオキシ脂肪酸のうち、前者の9-ヒドロペルオキシ-10 (E), 12 (Z), 15 (Z)-オクタデカトリエン酸を本発明関連ヒドロペルオキシ脂肪酸 (a) として、また後者の13-ヒドロペルオキシ-9 (Z), 11 (E), 15 (Z)-オクタデカトリエン酸を本発明関連ヒドロペルオキシ脂肪酸 (b) として、これらの化学構造式を以下に記載する。

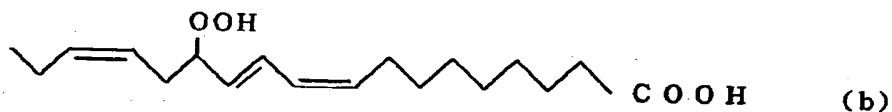
【0062】

【化4】



【0063】

【化5】



【0064】

次いで、このヒドロペルオキシ不飽和脂肪酸を基質として、アレノキシサイドシンターゼを作用させることによって、所望する本発明関連ケトール脂肪酸を製造することができる。

【0065】

アレノキシサイドシンターゼは、ヒドロペルオキシ基をエポキシ化を経てケトール体に変換する活性を有する酵素であり、前記リポキシゲナーゼと同様に植物、動物及び酵母において存在する酵素であり、植物であれば被子植物全般〔具体的には、後述する本発明成長促進剤を適用可能な双子葉植物及び単子葉植物全般〕において、存在している酵素である。

【0066】

なお、このアレノキシサイドシンターゼは植物であれば、大麦、小麦、トウモ

ロコシ、綿、ナス、アマ（種等）、チシャ、エンバク、ハウレンソウ、ヒマワリ等においてその存在が認められている。

【0067】

本発明においてアレンオキサイドシンターゼは、例えば上記の9-ヒドロペルオキシ-10 (E), 12 (Z), 15 (Z)-オクタデカトリエン酸の9位のヒドロペルオキシ基を脱水することによりエポキシ基を形成させ、さらに $\text{OH}^-$ の求核反応により、所望する本発明関連ケトール脂肪酸を結果として得ることができる限りにおいて特に限定されるものではない。

【0068】

ところで、上記のアレンオキサイドシンターゼ処理を行うに際しては、用いるアレンオキサイドシンターゼの至適温度及び至適pHで酵素反応を進行させることが好ましいのは当然である。

【0069】

また、ここで用いられるアレンオキサイドシンターゼは、通常公知の方法により、上記植物等から抽出・精製したものをを用いることも、市販品を用いることも可能である。

【0070】

上記の2工程の酵素反応は、別々に行うことも、連続して行うことも可能である。さらに、上記酵素の粗精製品又は精製品を上記酵素反応を進行させるために用いて、所望する本発明関連ケトール不飽和脂肪酸を得ることが可能である。また、上記酵素を担体に固定して、これらの固定化酵素を調製してカラム処理又はバッチ処理等を基質に施すことにより所望する本発明関連ケトール脂肪酸を得ることができる。

【0071】

なお、エポキシ基を形成させた後の $\text{OH}^-$ の求核反応（上記）により本発明関連ケトール脂肪酸を得ようとする場合に、その求核物の上記エポキシ基付近における作用形式によっては、 $\alpha$ -ケトール不飽和脂肪酸の他に、 $\gamma$ -ケトール化合物が生成する。

【0072】

この $\gamma$ -ケトール化合物は、上記①の欄で述べたHPLC等の通常公知の分離手段を用いることにより、容易に $\alpha$ -ケトール化合物と分離することができる。

【0073】

⑨化学合成法について：

また、本発明関連ケトール脂肪酸は、通常公知の化学合成法を駆使することにより製造することもできる。

【0074】

例えば、その一端にアルデヒド基等の反応性基を有し、他端に保護基を結合させたカルボキシル末端を付加させた飽和炭素鎖を通常公知の方法により合成し、これとは別にcis2-ヘキセン-1-オール等の不飽和アルコール等を出発物質として、所望の位置に不飽和基を有する反応性末端を有する不飽和炭素鎖とを合成する。次いで、上記飽和炭化水素鎖とこの不飽和炭素鎖とを反応させて、本発明関連ケトール脂肪酸を製造することができる。なお、この一連の反応において、反応を企図しない末端に付加する保護基や反応を促進するための触媒は、具体的な反応様式に応じて適宜選択して用いることができる。

【0075】

さらに具体的には、例えば以下のような手順で本発明関連ケトール脂肪酸を合成することができる。

i)本発明関連ケトール脂肪酸(I)の合成

Nonanedioic acid mono ethylesterを出発原料として、N,N'-carbonyldiimideと反応させ、酸イミダゾリドとした後に、低温で $\text{LiAlH}_4$ 還元して、対応するアルデヒドを合成する。なお、上記出発物質を例えば1,9-Nonanediol等のジオールとして、同様のアルデヒドを合成することも可能である。

【0076】

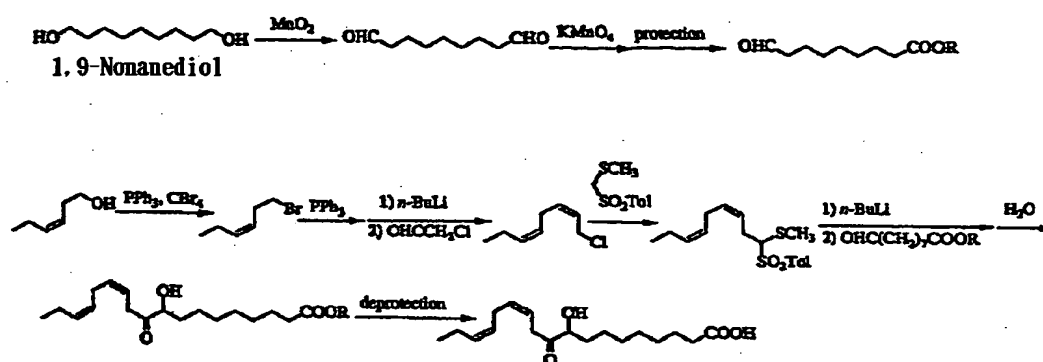
これとは別に、cis-2-ヘキセン-1-オール(cis-2-hexen-1-ol)をtriphenyl phosphine 及びcarbon tetrabromide と反応させ、得られた臭化化合物にtriphenyl phosphine を反応させ、さらにn-BuLiの存在下でchloroacetaldehydeと反応させることによりcis オレフィンを構築し、さらにこれにmethylthio methyl p-tolyl sulfone と反応後、NaH の存在下、上記のアルデヒドと反応させて誘導した

2級アルコールをtert-butyl diphenyl silyl chlorideで保護して、酸加水分解、次いで脱保護することにより、所望する本発明関連ケトール脂肪酸（I）を合成することができる。

【0077】

以下に、この本発明関連ケトール脂肪酸（I）の合成工程の一例の簡単な工程図を示す。

【化6】



【0078】

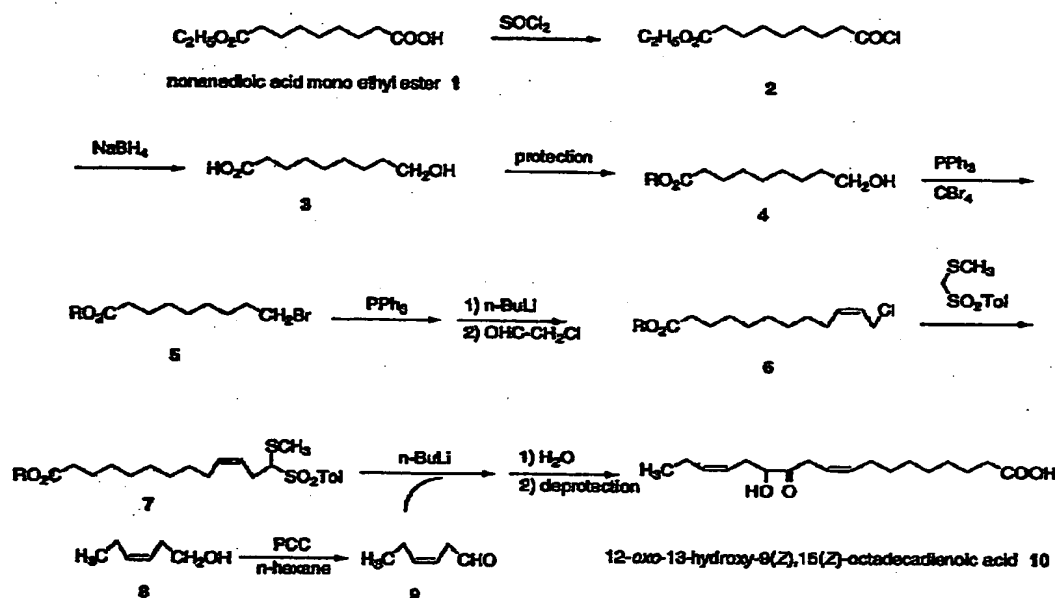
ii) 本発明関連ケトール脂肪酸（II）の合成

Nonanedioic acid mono ethylester を出発原料として、塩化チオニルと反応させることにより、これを酸クロリドとした後で、 $\text{NaBH}_4$  還元を行い、酸アルコールを生成させる。次いで、この酸アルコールの遊離カルボン酸を保護した後に、triphenyl phosphine 及びcarbon tetrabromide と反応させ、得られた臭化化合物にtriphenyl phosphine を反応させ、さらにn-BuLiの存在下でchloroacetaldehydeと反応させることによりcis オレフィンを構築し、さらにこれにmethylthio methyl p-tolyl sulfone と反応後、n-BuLiの存在下で、これを別にcis-2-hexen-1-olのPCC 酸化により誘導したアルデヒドと反応させ、最後に脱保護することにより、所望する本発明関連ケトール脂肪酸（II）を合成することができる。

【0079】

以下に、この本発明関連ケトール脂肪酸（II）の合成工程の一例の簡単な工程図を示す。

【化 7】



【 0 0 8 0 】

iii) 本発明ケトール脂肪酸 (III) の合成

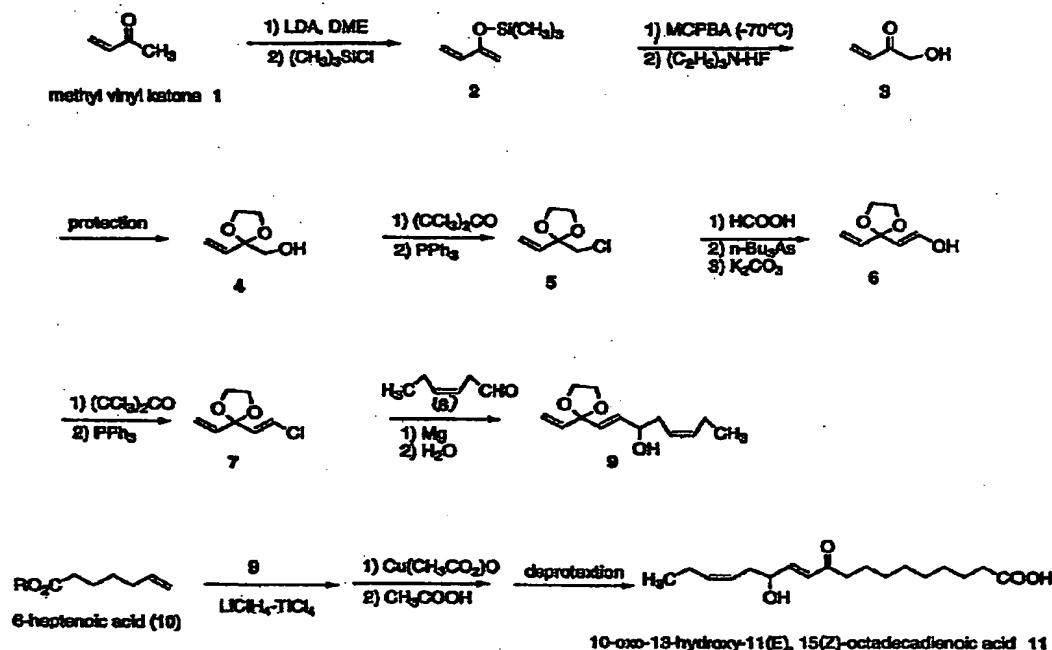
Methyl vinyl ketoneを出発原料とし、LDA 及びDME の存在下でtrimethylsilyl chlorideを反応させ、得られたシリルエーテルを、低温(-70℃) でMCPBA 及びtrimethylamine hydrofluoric acidを添加してケトアルコールを調製する。次いでこのケトアルコールのカルボニル基を保護した後に、triphenyl phosphine 及びtrichloroacetoneを反応試薬に用いて、オレフィンに塩化物を付加させることなく反応させ、この反応物をtributylarsine及び $\text{K}_2\text{CO}_3$  の存在下で、formic acidを反応させ、trans オレフィンを構築して塩化物とする。次いで、この塩化物とcis-2-hexen-1-olのPCC 酸化により誘導したアルデヒドと反応させて、この反応物と6-heptenonic acid との結合反応を行い、最後に脱保護することにより、所望する本発明関連ケトール脂肪酸 (III) を合成することができる。

【 0 0 8 1 】

以下に、この本発明関連ケトール脂肪酸 (III) の合成工程の一例の簡単な工程図を示す。



【化 8】



【0082】

B. 本発明成長促進剤について

本発明成長促進剤は、これを植物に使用することにより、その植物の成長速度を早め、収穫効率等を向上させることが可能である。

【0083】

本発明成長促進剤の有効成分である、本発明関連ケトール脂肪酸の植物に対する投与量の上限は特に限定されない。すなわち、本発明成長促進剤により、本発明関連ケトール脂肪酸を多量に投与しても、成長阻害等の植物に対する負の効果は、ほとんど認められない。これは、従来から用いられている植物ホルモン剤を過剰投与すると、植物に対する負の効果が顕著に現れ、これらの使用に際しては、過剰投与がなされないように格別の気配りをしなければならないことと比較すると、本発明成長促進剤は非常に優れているといえる。

【0084】

また、上記の本発明関連ケトール脂肪酸の植物に対する投与量の下限は、植物個体の種類や大きさにより異なるが、1つの植物個体に対して1回の投与当り、1  $\mu M$  程度以上が一応の目安である。

【0085】

本発明成長促進剤における、本発明関連ケトール脂肪酸の配合量は、その使用態様や使用する対象となる植物の種類、さらには本発明成長促進剤の具体的な剤形等に応じて選択することが可能である。本発明成長促進剤の態様として、本発明関連ケトール脂肪酸をそのまま用いることも可能であるが、上記の本発明関連ケトール脂肪酸の投与の目安等を勘案すると、概ね、剤全体に対して1～100 ppm 程度が好ましく、さらに好ましくは、同10～50 ppm 程度である。

#### 【0086】

本発明成長促進剤の剤形としては、例えば、液剤、固形剤、粉剤、乳剤、底床添加剤等の剤形が挙げられ、その剤形に応じて、製剤学上適用することが可能な公知の担体成分、製剤用補助剤等を本発明の所期の効果である植物の成長促進作用が損なわれない限度において、適宜配合することができる。例えば、担体成分としては、本発明成長促進剤が底床添加剤又は固形剤である場合には、概ねタルク、クレー、バーミキュライト、珪藻土、カオリン、炭酸カルシウム、水酸化カルシウム、白土、シリカゲル等の無機質や小麦粉、澱粉等の固体担体が；また液剤である場合には、概ね水、キシレン等の芳香族炭化水素類、エタノール、エチレングリコール等のアルコール類、アセトン等のケトン類、ジオキサン、テトラヒドロフラン等のエーテル類、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル等の液体担体が上記の担体成分として用いられる。また製剤用補助剤としては、例えばアルキル硫酸エステル類、アルキルスルホン酸塩、アルキルアリアルスルホン酸塩、ジアルキルスルホコハク酸塩等の陰イオン界面活性剤、高級脂肪族アミンの塩類等の陽イオン界面活性剤、ポリオキシエチレングリコールアルキルエーテル、ポリオキシエチレングリコールアシルエステル、ポリオキシエチレングリコール多価アルコールアシルエステル、セルロース誘導体等の非イオン界面活性剤、ゼラチン、カゼイン、アラビアゴム等の増粘剤、増量剤、結合剤等を適宜配合することができる。

#### 【0087】

さらに必要に応じて、植物生長調節剤や、安息香酸、ニコチン酸、ニコチン酸アミド、ピペコリン酸等を、上記の本発明の所期の効果を損なわない限度において、本発明成長促進剤中に配合することもできる。

【0088】

本発明成長促進剤は、その剤形に応じた方法で種々の植物に用いられ得る。例えば、本発明においては、植物の生長点のみならず、茎や葉をはじめとする植物体の一部又は全体に液剤や乳剤として散布、滴下、塗布等することや、固形剤や粉剤として地中から根に吸収させること等が可能である。また、成長の促進を図る植物がウキクサ等の水草の場合には、底床添加剤として根から吸収させたり、固形剤を水中で徐々に溶解させること等も可能である。

【0089】

本発明成長促進剤の植物への投与頻度は、植物個体の種類等により異なるが、概ね1日1回程度ないし1週間に1回程度が適当である。

【0090】

本発明成長促進剤を適用可能な植物の種類は特に限定されず、双子葉植物、単子葉植物の両者に対して本発明成長促進剤は有効である。

【0091】

双子葉植物としては、例えばアサガオ属植物（アサガオ）、ヒルガオ属植物（ヒルガオ、コヒルガオ、ハマヒルガオ）、サツマイモ属植物（ゲンバイヒルガオ、サツマイモ）、ネナシカズラ属植物（ネナシカズラ、マメダオシ）が含まれるひるがお科植物、ナデシコ属植物、ハコベ属植物、タカネツメクサ属植物、ミミナグサ属植物、ツメクサ属植物、ノミノツツリ属植物、オオヤマフスマ属植物、ワチガイソウ属植物、ハマハコベ属植物、オオツメクサ属植物、シオツメクサ属植物、マンテマ属植物、センノウ属植物、フシグロ属植物、ナンバンハコベ属植物等のなでしこ科植物をはじめ、もくまもう科植物、どくだみ科植物、こしょう科植物、せんりょう科植物、やなぎ科植物、やまもも科植物、くるみ科植物、かばのき科植物、ぶな科植物、にれ科植物、くわ科植物、いらくさ科植物、かわごけそう科植物、やまもがし科植物、ぼろぼろのき科植物、びやくだん科植物、やどりぎ科植物、うまのすずくさ科植物、やっこそう科植物、つちとりもち科植物、たで科植物、あかざ科植物、ひゆ科植物、おしろいばな科植物、やまとぐさ科植物、やまごぼう科植物、つるな科植物、すべりひゆ科植物、もくれん科植物、やまぐるま科植物、かつら科植物、すいれん科植物、まつも科植物、きんぼうげ

科植物、あけび科植物、めぎ科植物、つづらふじ科植物、ろうばい科植物、くすのき科植物、けし科植物、ふうちょうそう科植物、あぶらな科植物、もうせんごけ科植物、うつばかずら科植物、べんけいそう科植物、ゆきのした科植物、とべら科植物、まんさく科植物、すずかけのき科植物、ばら科植物、まめ科植物、かたばみ科植物、ふうろそう科植物、あま科植物、はまびし科植物、みかん科植物、にがき科植物、せんだん科植物、ひめはぎ科植物、とうだいぐさ科植物、あわごけ科植物、つげ科植物、がんこうらん科植物、どくうつぎ科植物、うるし科植物、もちのき科植物、にしきぎ科植物、みつばうつぎ科植物、くろたきかずら科植物、かえで科植物、とちのき科植物、むくろじ科植物、あわぶき科植物、つりふねそう科植物、くろうめもどき科植物、ぶどう科植物、ほるとのき科植物、しなのき科植物、あおい科植物、あおぎり科植物、さるなし科植物、つばき科植物、おとぎりそう科植物、みぞはこべ科植物、ぎよりゅう科植物、すみれ科植物、いいぎり科植物、きぶし科植物、とけいそう科植物、しゅうかいどう科植物、さぼてん科植物、じんちょうげ科植物、ぐみ科植物、みそはぎ科植物、ざくろ科植物、ひるぎ科植物、うりのき科植物、のぼたん科植物、ひし科植物、あかばな科植物、ありのとうぐさ科植物、すぎなも科植物、うこぎ科植物、せり科植物、みずき科植物、いわうめ科植物、りょうぶ科植物、いちやくそう科植物、つつじ科植物、やぶこうじ科植物、さくらそう科植物、いそまつ科植物、かきのき科植物、はいのき科植物、えごのき科植物、もくせい科植物、ふじうつぎ科植物、りんどう科植物、きょうちくとう科植物、ががいも科植物、はなしのぶ科植物、むらさき科植物、くまつづら科植物、しそ科植物、なす科植物、ごまのはぐさ科植物、のうぜんかずら科植物、ごま科植物、はまうつぼ科植物、いわたばこ科植物、たぬきも科植物、きつねのまご科植物、はまじんちょう科植物、はえどくそう科植物、おおばこ科植物、あかね科植物、すいかずら科植物、れんぷくそう科植物、おみなえし科植物、まつむしそう科植物、うり科植物、ききょう科植物、きく科植物等を例示することができる。

【0092】

単子葉植物としては、例えばウキクサ属植物（ウキクサ）及びアオウキクサ属植物（アオウキクサ、ヒンジモ）が含まれる、うきくさ科植物、カトレア属植物

、シンビジウム属植物、デンドロビューム属植物、ファレノプシス属植物、パンダ属植物、パフィオペディラム属植物、オンシジウム属植物等が含まれる、らん科植物、がま科植物、みくり科植物、ひるむしろ科植物、いばらも科植物、ほろむいそう科植物、おもだか科植物、とちかがみ科植物、ほんごうそう科植物、いね科植物、かやつりぐさ科植物、やし科植物、さといも科植物、ほしぐさ科植物、つゆくさ科植物、みずあおい科植物、いぐさ科植物、びやくぶ科植物、ゆり科植物（アスパラガス等）、ひがんばん科植物、やまのいも科植物、あやめ科植物、ばしょう科植物、しょうが科植物、かんな科植物、ひなのしゃくじょう科植物等を例示することができる。

【0093】

本発明成長促進剤は、これまで肥料では成長促進作用が困難であった、発芽後初期の植物の成長を特に促進することを特徴とする。故に、本発明成長促進剤の投与は、播種時ないし発芽後の生育初期段階にすることが好ましい。

【0094】

本発明成長促進剤を、発芽後の生育初期に本発明成長促進剤を噴霧等により投与するだけで、植物の成長の促進が認められ、しかも、その成長促進効果には持続性が認められる。また、前述したように、本発明成長促進剤を、過剰に使用しても、施肥を過剰に行う場合のような植物の生育障害がほとんど認められず、使用量をあまり気にかけることなく用いることができる。さらには、植物の成長の促進とは別に、本発明成長促進剤の使用により、花の形成や開花等を促進させることも可能で、植物の生殖成長に対しても好ましい影響を与えることが知られている（特開平10－324602号公報等）。

【0095】

園芸ないし農業の分野においては、納品後の扱いが面倒な種子ではなく、苗による流通が主流になりつつある。特に、花卉ビジネスにおいては、一般愛好家は、すでにほとんど苗を購入している。本発明成長促進剤を苗の流通前に用いることにより、販売時において、苗を大きくすることが可能である。

【0096】

また、上述した本発明成長促進剤の性質は、ハウレンソウ、レタス、キャベツ

等、いわゆる葉物農作物の収穫を増大するための利用に適している。

【0097】

【実施例】以下、本発明を実施例を用いて具体的に説明するが、これにより本発明の技術的範囲が限定されるべきものではない。

【製造例】本発明関連ケトール脂肪酸（I）の製造

以下のようにして、本発明関連ケトール脂肪酸（I）〔9-hydroxy-10-oxo-12(Z), 15(Z)-octadecadienoic acid : 以下、「 $\alpha$ ケトールリノレン酸」ともいう〕を酵素法により製造した。

【0098】

1. コメ胚芽由来のリボキシゲナーゼの調製

コメ胚芽 350g を石油エーテルで洗浄、脱脂及び乾燥したもの（250g）を、0.1M・pH4.5の酢酸緩衝液 1.25l に懸濁し、この懸濁物をホモジナイズした。

【0099】

次いで、かかるホモジナイズ抽出液を 16000rpm で 15 分間遠心分離し、上清（0.8l）を得た。得られた上清に硫酸アンモニウム 140.8g（0～30%飽和）を加え、4℃で一晩硫酸沈澱を行った。その後、9500rpm で 30 分間遠心を行い、得られた上清（0.85l）に硫酸アンモニウム 232g（30～70%飽和）を添加して、4℃で 5 時間放置した。

【0100】

次に、同様に 9500rpm で 30 分間遠心を行い、これにより得られた沈澱物（コメ胚芽抽出液の硫酸 30～70%飽和画分）を、pH4.5の酢酸緩衝液 300ml に溶解し、63℃で 5 分間加熱処理を行った。その後、生成した沈澱物を除去して、得られた上清を、RC透析チューブ（Spectrum社製ポア 4 : MWCO 12000～14000）を用いて透析（3l × 3）により脱塩後、所望するコメ胚芽由来のリボキシゲナーゼの粗酵素液を得た。

【0101】

2. アマ種子由来のアレンオキサイドシンターゼの調製

アマ種子は一丸ファルコスから購入した。このアマ種子 200g に、アセトン

250mlを添加してホモジナイズ(20s×3)し、得られた沈澱物を目皿ロートで濾取し、溶媒を除去した。

【0102】

次いで、沈澱物を再びアセトン250mlに懸濁してホモジナイズ(10s×3)し、沈澱物を得た。沈澱物をアセトン及びエチルエーテルで洗浄後、乾燥して、アマ種子のアセトン粉末を得た(150g)。

【0103】

このアマ種子のアセトン粉末を、氷冷下50mMリン酸緩衝液(pH7.0)400mlに懸濁し、これを4℃で1時間スターラー攪拌を施して抽出した。

【0104】

得られた抽出物を、11000rpmで30分間遠心し、これにより得られた上清(380ml)に硫酸アンモニウム105.3g(0~45%飽和)を加え、氷冷下で1時間静置し、さらに17000rpmで30分間遠心して得られた沈澱物を、50mMリン酸緩衝液(pH7.0)150mlに溶解し、透析して脱塩し(3l×3)、所望するアマ種子由来のアレンオキサイドシンターゼの粗酵素液を得た。

【0105】

3. α-リノレン酸のナトリウム塩の調製

出発原料とするα-リノレン酸は、水における溶解性が著しく低いので、酵素基質として働くことを容易にするために、α-リノレン酸をナトリウム塩化した。

【0106】

すなわち、炭酸ナトリウム530mgを、精製水10mlに溶解して55℃に加温し、これにα-リノレン酸(ナカライテスク社)を278mg滴下して、3時間攪拌した。

【0107】

反応終了後、Dwex50W-X8(H<sup>+</sup> form)(ダウケミカル社製)で中和すると、沈澱物が生成した。これを濾過して樹脂を除き、MeOHで洗浄後、減圧下で溶媒を留去した。

【0108】

これにより得られた生成物をイソプロパノールで再結晶し、所望する $\alpha$ -リノレン酸のナトリウム塩 (250 mg, 83%) を得た。

【0109】

4. 本発明関連ケトール脂肪酸 (I) ( $\alpha$ ケトールリノレン酸) の製造

上記3により得られた $\alpha$ -リノレン酸のナトリウム塩 (15 mg: 50  $\mu$ mol) を、0.1Mのリン酸緩衝液 (pH 7.0) 30 mlに溶解した。次いで、この溶液に、酸素気流下、25℃で上記1により得たコメ胚芽由来のリポキシゲナーゼの粗酵素液を3.18 ml添加した後、30分間攪拌した後、さらに同じくコメ胚芽由来のリポキシゲナーゼの粗酵素液を3.18 mlを添加して、30分間攪拌した。

【0110】

この攪拌終了後、このリポキシゲナーゼ反応物に、窒素気流下で上記2で得たアレンオキサイドシンターゼの粗酵素液を34.5 ml添加して、1時間攪拌した後、氷冷下希塩酸を添加して、反応溶液のpHを3.0に調整した。

【0111】

次いで、反応液を $\text{CHCl}_3$ -MeOH=10:1で抽出した。得られた抽出液を水洗後、硫酸マグネシウムで乾燥し、酢酸0.1 mlを加え、減圧下、溶媒を留去して乾燥した。

【0112】

このようにして得られた粗生成物をHPLCにかけて、その $\alpha$ -ケトールリノレン酸と認められるピーク (リテンションタイム: 16分付近) を分取した。分取した画分にクロロホルムを加え、クロロホルム層を分離して水洗し、エバポレーターでこのクロロホルムを留去して、精製物を得た。

【0113】

この精製物の構造を確認するために重メタノール溶液で $^1\text{H}$ 、及び $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトルを測定した。

【0114】

その結果、 $^1\text{H}$ -NMRにおいて、末端メチル基 [ $\delta$ 0.98(t)], 2組のオレ



フィン [ (  $\delta$  5.25, 5.40 ), (  $\delta$  5.55, 5.62 ) ], 2級水酸基 [  $\delta$  4.09(dd) ] 及び多数のメチレンに基づくシグナルが認められ、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸であると推定された。

## 【0115】

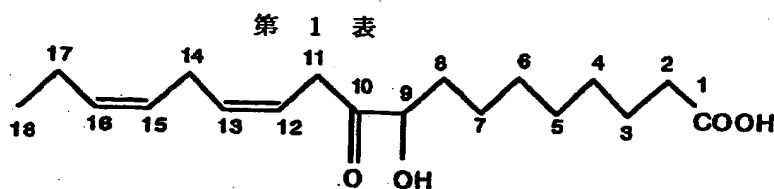
さらに、 $^{13}\text{C}$ -NMRのケミカルシフト値を比較したところ、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸〔特開平10-324602号公報第7頁の第11欄下から第1行目以降に記載されている「製造例（抽出法）」における $^{13}\text{C}$ -NMRのケミカルシフト値（同公開公報第8頁第13欄第2行目以降【0054】・【0055】）〕と一致した（第1表参照のこと）。

## 【0116】

よって、上記のようにして得た酵素法による合成品は、確かに本発明関連ケトール脂肪酸（I）としての $\alpha$ -ケトールリノレン酸〔9-hydroxy-10-oxo-12 (Z), 15(Z)-octadecadienoic acid〕であることが明らかになった。

## 【0117】

【表 1】



	標 品	酵素法による合成品
C-1	178.5	178.4
C-2	35.7	35.4
C-3	26.8*	26.9*
C-4	31.1**	31.1**
C-5	31.0**	31.0**
C-6	31.1**	31.1**
C-7	26.9*	26.9*
C-8	35.4	35.4
C-9	78.6	78.6
C-10	213.8	213.8
C-11	38.4	38.4
C-12	123.0	123.0
C-13	133.5	133.4
C-14	27.5	27.5
C-15	128.4	128.4
C-16	134.6	134.0
C-17	22.3	22.3
C-18	15.4	15.4

\*, \*\* 帰属不明

## 【0118】

【試験例】本発明関連ケトール脂肪酸（I）の植物の成長促進効果の検討

1. アサガオにおける成長促進効果の検討

9g のアサガオ（品種名：ムラサキ）の種子に濃硫酸処理を20分間施し、その後流水下で一晩放置した。次いで、種子のへその部分を上にして、湿った海砂上に24時間置いて、発根させた。これらの発根した種子を海砂中に、1.5～2.0cm程度の深さに植え、連続光下で培養した（5日間程度）。

## 【0119】

この培養により開葉したアサガオの全植物体を、培養液 [ $\text{KNO}_3$  (250mg),  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (250mg),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (250mg),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (250mg),  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1mg), Fe-citrate n-hydrate (6mg),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (2mg),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.1mg),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.2mg),  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.2mg),  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (250mg) / 1000ml 蒸留水] に移した。

【0120】

この培養系に、水または  $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $100 \mu\text{M}$  水溶液を噴霧し、一晚 (14時間) 暗処理をおこなった。その後、 $25^\circ\text{C}$  で16日間連続光で育成し、16日目の株の高さを測定した。N=8 の結果を平均した結果を第1図に示した。第1図に示すように、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸により、明らかにアサガオの株が大きくなった。

【0121】

2. レタスにおける成長促進効果の検討

レタスの播種一ヶ月後に、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $50 \mu\text{M}$  水溶液を5日間にわたり毎日噴霧して、その後の成長 (株幅) を観察した。その結果を、第2図に示す。第2図により、レタスにおける  $\alpha$ -ケトールリノレン酸による、成長促進効果が認められた。また、この成長促進効果は、試験開始48日後においても維持されていた。

【0122】

3. ソラマメにおける成長促進効果の検討

ソラマメの播種一ヶ月後に、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $50 \mu\text{M}$  水溶液を5日間にわたり毎日噴霧して、その後の成長 (株幅) を観察した。その結果を、第3図に示す。第3図により、ソラマメにおける  $\alpha$ -ケトールリノレン酸による、成長促進効果が認められた。また、この成長促進効果は、試験開始48日後においても維持されていた。

【0123】

4. ユーストマ (トルコキキョウ) における成長促進効果の検討

ユーストマの播種3ヶ月後のロゼット葉に、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $50 \mu\text{M}$  水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧したところ、抽苔が直ちに観察された。その後、48日間にわたり、株の成長を観察したところ、株幅はそれほどの増大を示

さなかったが、草丈については48日後でも増大し続けていた。その結果（草丈）を、第4図に示す。

【0124】

#### 5. シクラメンにおける成長促進効果の検討

シクラメンの播種後、4ヶ月経ってから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸50  $\mu$ M 水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。その後、48日間にわたり、株の幅と葉枚数を観察したところ、いずれも促進効果が見られた。その結果を、第5図に示す。

【0125】

#### 6. ジギタリスにおける成長促進効果の検討

ジギタリスの播種後、2週間経ってから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸80  $\mu$ M 水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。さらに、試験開始3ヶ月後から、同じ濃度の $\alpha$ -ケトールリノレン酸を、一週間に一度、6週間にわたり噴霧した。その5. 5ヶ月後に、葉の大きさと株の高さを測定したところ、いずれにおいても成長促進効果が認められた（第6図を参照のこと）。

【0126】

#### 7. クリサンセマム (Chrysanthemum) における成長促進効果の検討

クリサンセマムの播種後、2週間経ってから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸80  $\mu$ M 水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。さらに、試験開始3ヶ月後から、同じ濃度の $\alpha$ -ケトールリノレン酸を、一週間に一度、6週間にわたり噴霧した。クリサンセマムの栄養成長期は抽苔していないので、株の幅について、上記の最終噴霧4ヶ月後に測定したところ、有意に、クリサンセマムの株の幅が増大していることがわかった（第7図参照のこと）。

【0127】

#### 8. ゼラニウム (geranium) における成長促進効果の検討

ゼラニウムの播種後、2週間経ってから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸80  $\mu$ M 水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。さらに、試験開始3ヶ月後から、同じ濃度の $\alpha$ -ケトールリノレン酸を、一週間に一度、6週間にわたり噴霧した。なお、ゼラニウムについては、葉に模様があるものと、ないものの2種について、こ

の試験を行った。上記の最終噴霧から5. 5ヶ月後に葉の大きさを測定したところ、いずれの種類とも、葉の大きさに促進効果が認められた（第8図参照のこと）。

【0128】

9. プリムラ・メラコイデス (Primula melacoides) における成長促進効果の検討

プリムラ・メラコイデスの播種後、1. 5ヶ月経ってから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $80 \mu\text{M}$  水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。さらに、試験開始4ヶ月後から、同じ濃度の $\alpha$ -ケトールリノレン酸を一週間に一度、6週間にわたり噴霧した。プリムラ・メラコイデスも栄養成長期は抽苔していないので、株の幅と葉の大きさについて、上記の最終噴霧の6. 5ヶ月後に測定したところ、両者とも増大していることが認められた（第9図参照のこと）。

【0129】

10. ベゴニア・センパフローレンス (Begonia semperflorens) における成長促進効果の検討

ベゴニア・センパフローレンスの播種後、2週間経過してから、 $\alpha$ -ケトールリノレン酸  $80 \mu\text{M}$  水溶液を5日間にわたり、毎日噴霧した。さらに、試験開始3ヶ月後から、同じ濃度の $\alpha$ -ケトールリノレン酸を一週間に一度、6週間にわたり噴霧した。この最終噴霧の4ヶ月後、葉の大きさを測定したところ、成長促進効果が認められた（第10図参照のこと）。

【0130】

上述の全試験例の結果より、本発明関連ケトール脂肪酸（I）には、優れた植物の成長促進効果が、多くの植物一般において認められることが明らかになった。特に、植物の成長初期においても、本発明関連ケトール脂肪酸（I）の成長促進効果は、認められ、しかも、その成長促進効果は、持続的であることが明らかになった。

【0131】

このように、本発明成長促進剤の有効成分として用いられる本発明関連ケトール脂肪酸（I）における、幅広い植物の種類に対する成長促進効果が認められ、

本発明成長促進剤の有用性が明らかになった。

【0132】

【発明の効果】

本発明により、優れた植物の成長促進作用を有する、植物の成長促進剤が提供される。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明関連ケトール脂肪酸のアサガオにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図2】本発明関連ケトール脂肪酸のレタスにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図3】本発明関連ケトール脂肪酸のソラマメにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図4】本発明関連ケトール脂肪酸のユーストマにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図5】本発明関連ケトール脂肪酸のシクラメンにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図6】本発明関連ケトール脂肪酸のジギタリスにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図7】本発明関連ケトール脂肪酸のクリサンセマムにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図8】本発明関連ケトール脂肪酸のゼラニウムにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

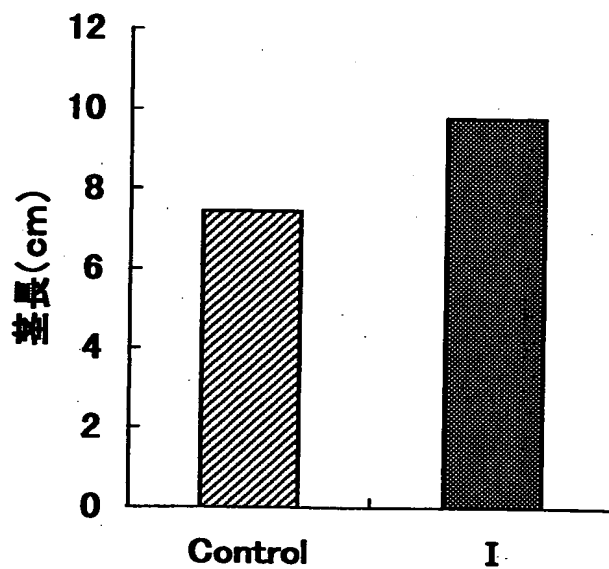
【図9】本発明関連ケトール脂肪酸のプリムラ・メラコイデスにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【図10】本発明関連ケトール脂肪酸のペコニア・センパフローレンスにおける成長促進効果を検討した結果を示す図面である。

【書類名】 図面

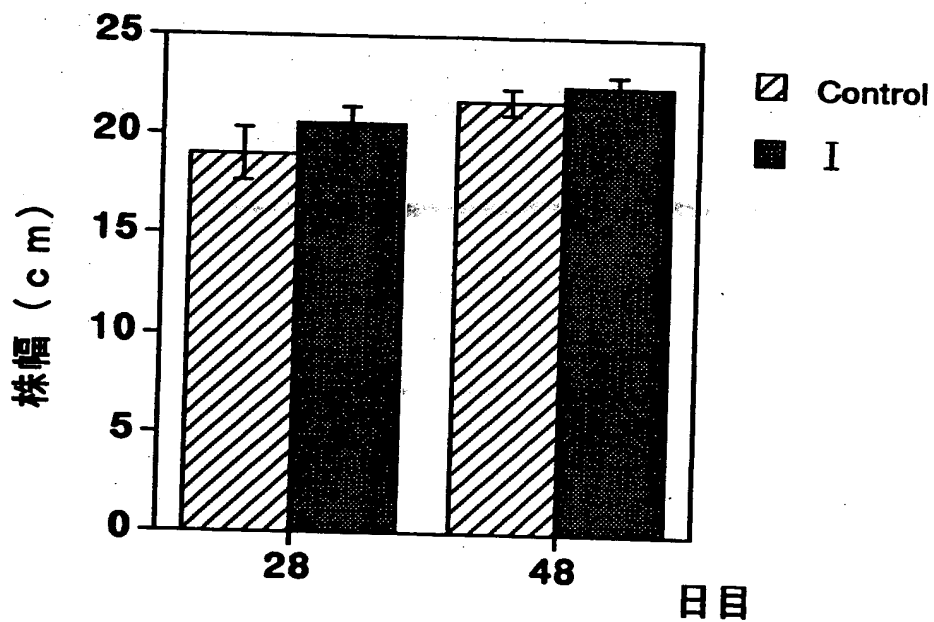
【図 1】

第 1 図  
アサガオ株の大きさ



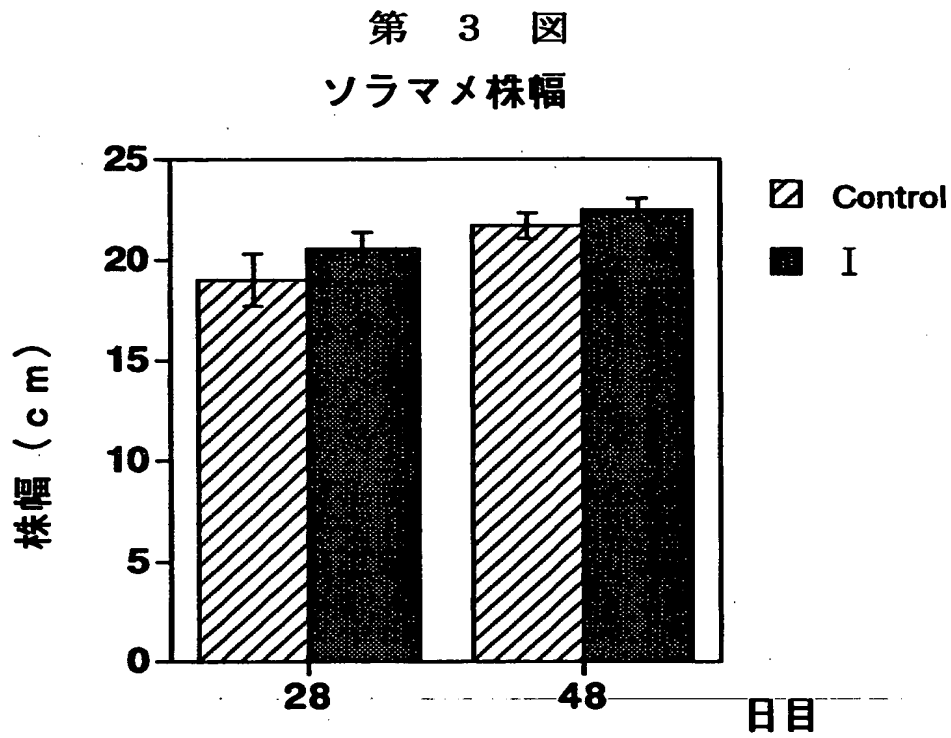
【図2】

第 2 図  
レタス株幅



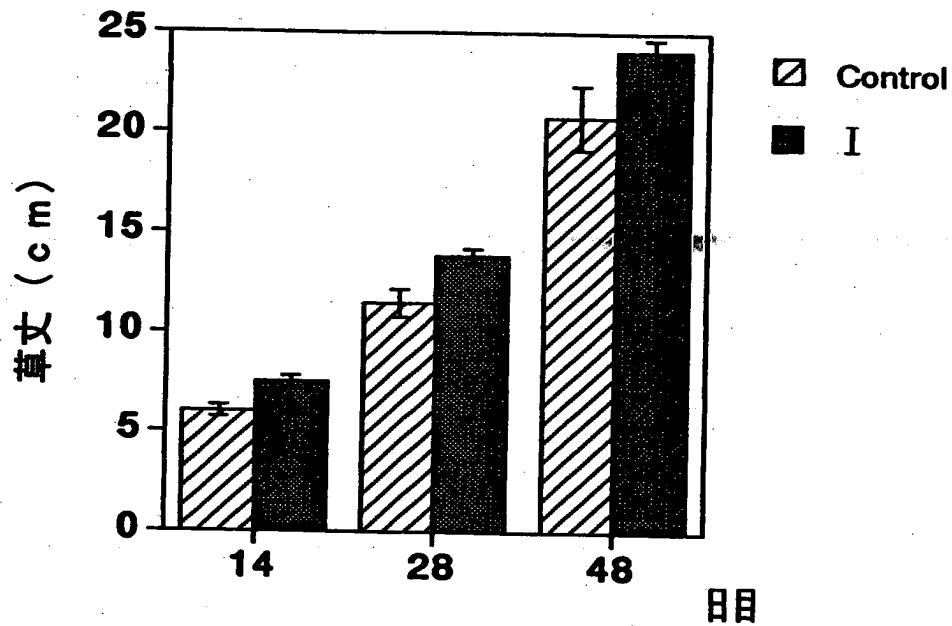


【図 3】



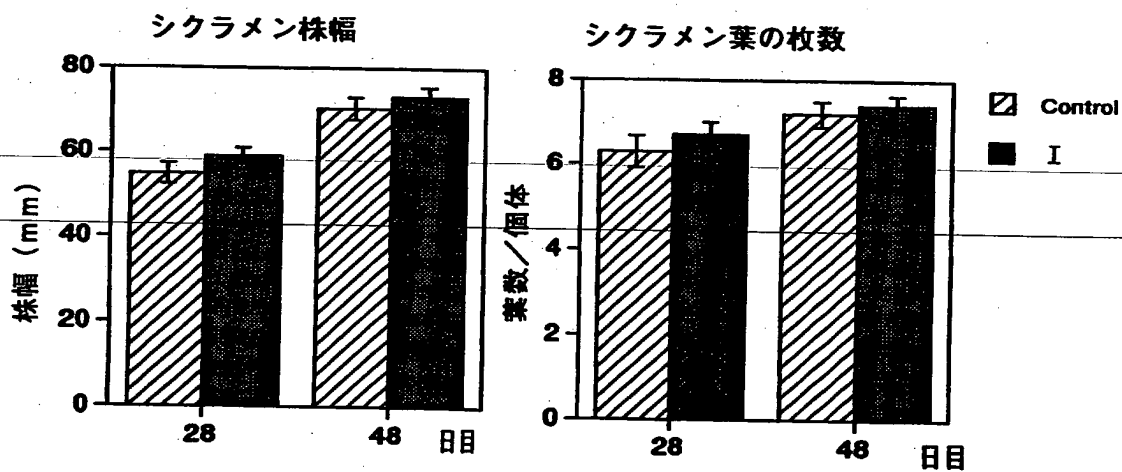
【図 4】

第 4 図  
ユーストマ草丈

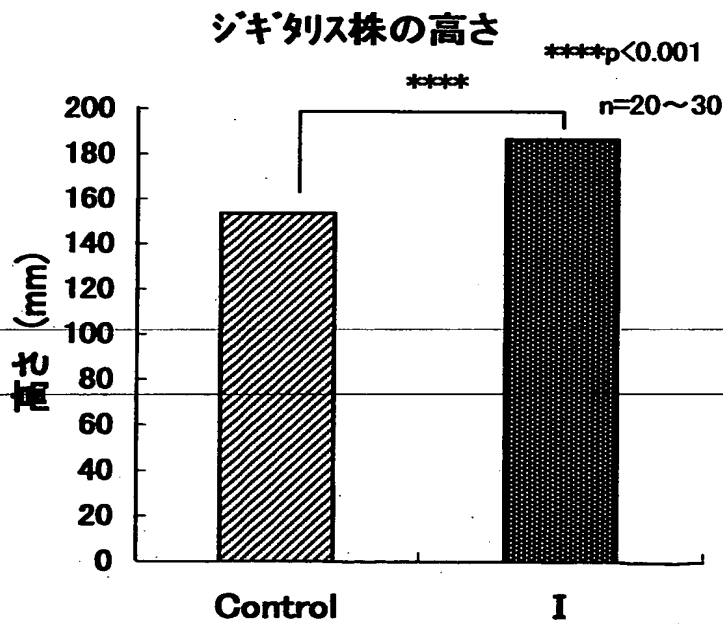
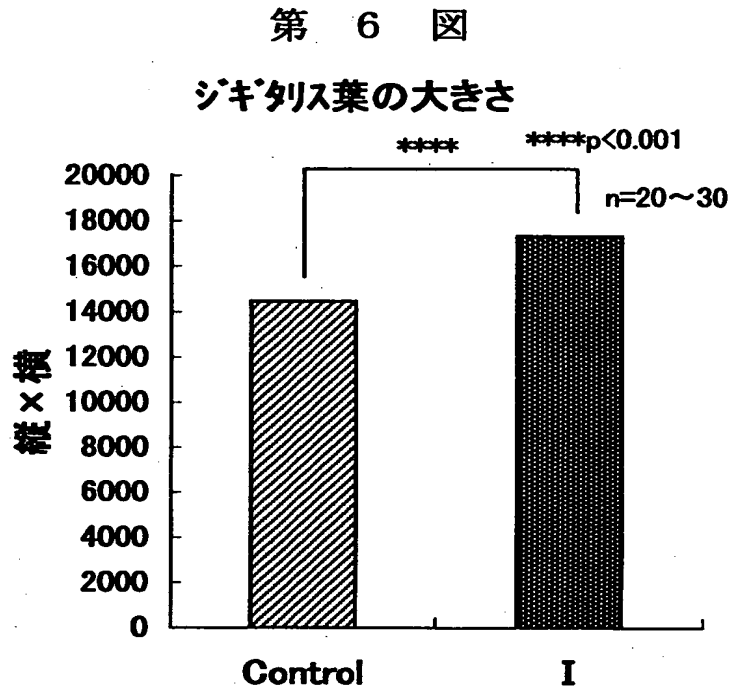


【図 5】

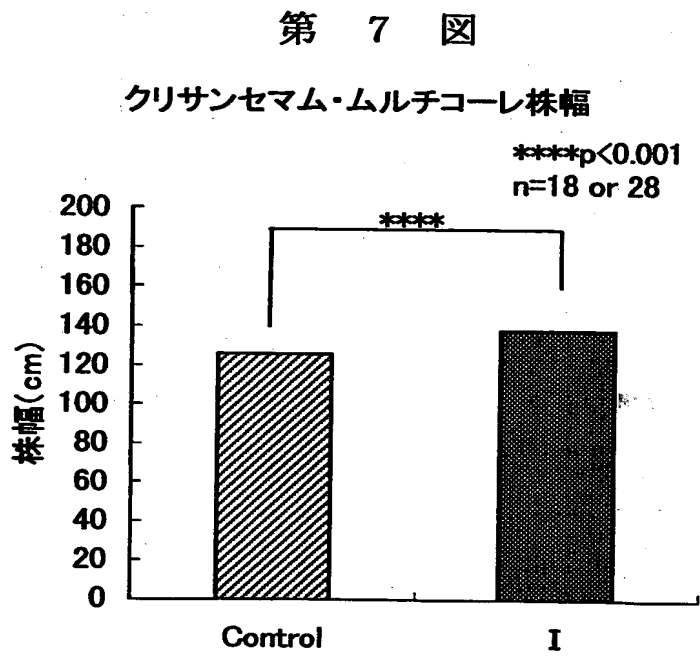
第 5 図



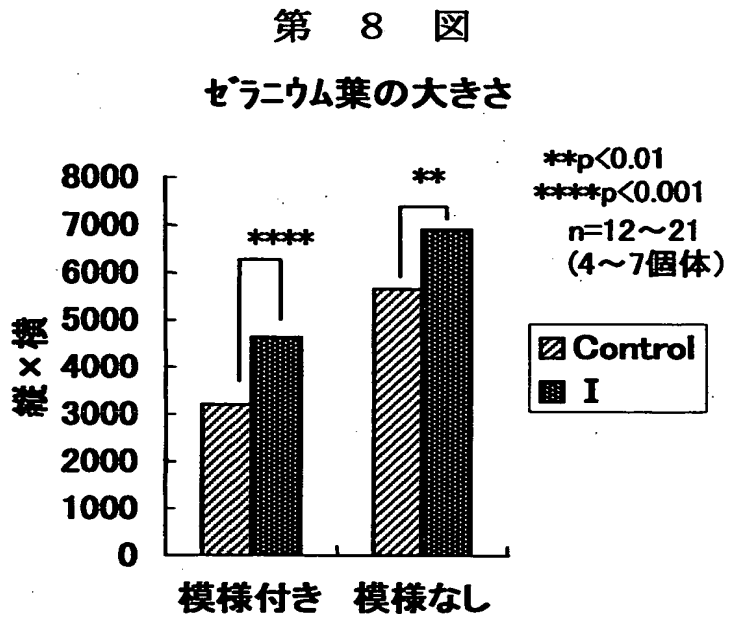
【図 6】



【図 7】



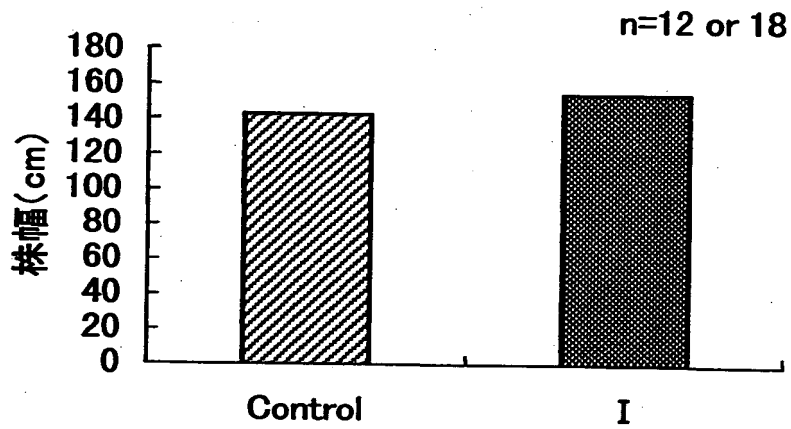
【図 8】



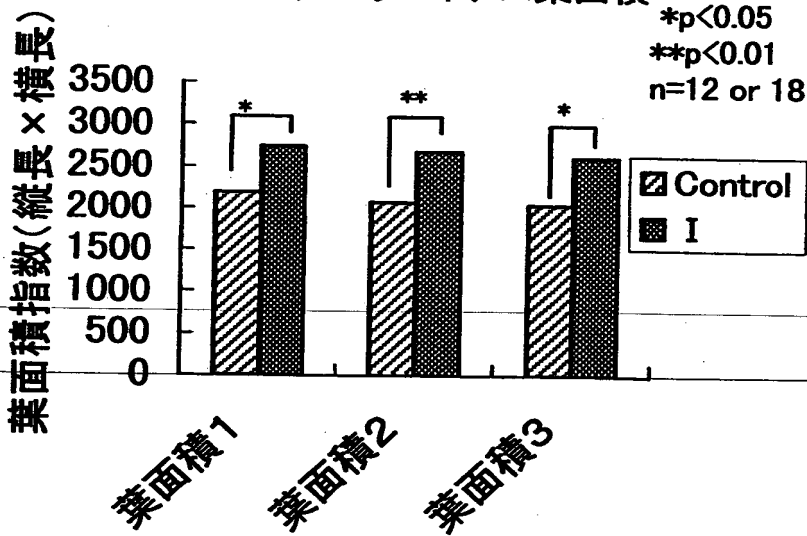
【図 9】

第 9 図

プリムラ・メラコイデス株幅



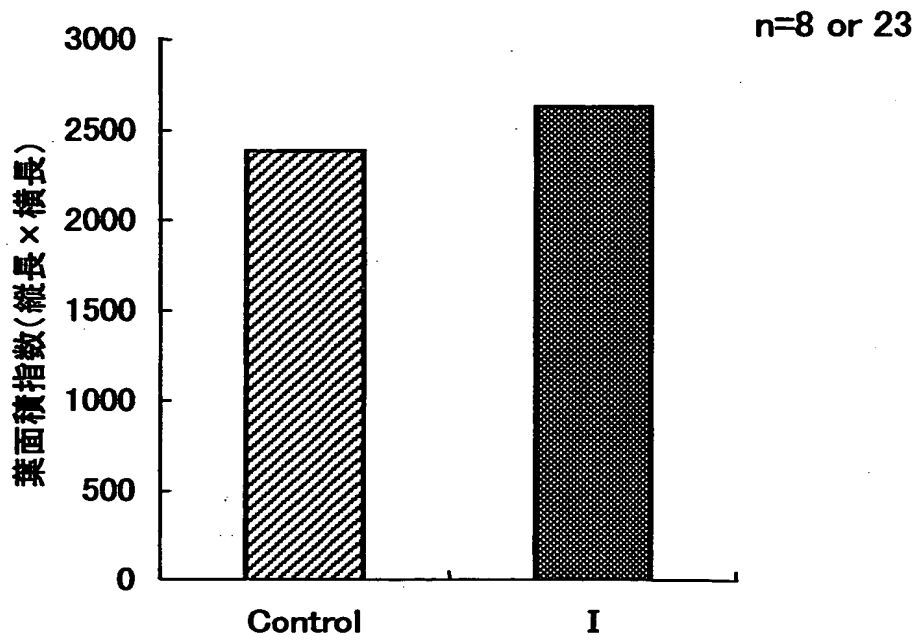
プリムラ・メラコイデス葉面積



【図 1 0】

第 1 0 図

ペゴニア・センパフローレンス葉面積



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】従来行われている植物の成長促進手段とは異なる植物の成長促進手段、特に、植物の成長初期においても、施肥のように植物の成長を阻害しない成長促進手段を見出して、肥料の使用量を抑え、土壌環境を悪化させることなく、植物の成長を促進させること。

【解決手段】2位ないしn位のいずれかに位置する炭素原子から選ばれる異なる2つの炭素原子の一方がカルボニル基を構成する炭素原子であり、他方がヒドロキシル基が結合した炭素原子であり、かつ、炭素原子数が4～24のケトール脂肪酸を有効成分とする植物の成長促進剤を提供することにより、上記の課題を解決し得ることを見出した。

【選択図】 なし



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001959]

1. 変更年月日 1990年 8月27日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都中央区銀座7丁目5番5号  
氏 名 株式会社資生堂

